

董 晶,张 焱,曹赵茹,等. 藜麦总黄酮的超声波法提取及抗氧化活性[J]. 江苏农业科学,2015,43(4):267-269.  
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2015.04.097

# 藜麦总黄酮的超声波法提取及抗氧化活性

董 晶,张 焱,曹赵茹,李志英  
(忻州师范学院化学系,山西忻州 034000)

**摘要:**用超声法探讨提取藜麦黄酮的最佳工艺,并测定其自由基的清除能力及对淀粉酶的降解作用。结果表明,最佳提取条件为:料液比为 1 g : 50 mL,乙醇浓度 80%,提取温度 50 ℃,提取时间 30 min,超声功率为 240 W。藜麦黄酮提取液对 DPPH·、·OH 的清除能力分别为 89.3%、86.6%,对淀粉酶的抑制率为 41.38%。

**关键词:**藜麦;黄酮;抗氧化性

**中图分类号:** R284.2 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2015)04-0267-03

藜麦(*Chenopodium quinoa* Willd.) 原产于南美洲安第斯山区,是印加土著居民的传统食物,有 7 000 多年的种植历史。联合国粮农组织认为,藜麦是唯一的单体植物即可满足人体基本营养需求的食物<sup>[1]</sup>。藜麦含有丰富的类黄酮物质,有助于血液循环、软化血管,可明显促进糖脂代谢、胰岛素分泌,对糖尿病有很好的疗效。藜麦黄酮具有抗氧化<sup>[2]</sup>、抗癌及防癌<sup>[3]</sup>、降压及降血脂、改善微循环、抑菌、消炎等功效,是极具开发前景的天然有机抗氧化剂。本研究对藜麦黄酮的最佳提取条件进行了探究,并研究了其体外清除 DPPH·、·OH 自由基的能力,旨在为开发利用藜麦资源提供依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 主要试剂

藜麦(山西稼祺农业科技有限公司)。准确称取 0.020 2 g 芸香苷标准样品(北京化学试剂公司),用少量无水乙醇溶解后用 80% 无水乙醇定容至 100 mL 容量瓶中,得 0.202 mg/mL 芸香苷溶液。准确称取 5 g 硝酸铝(天津市风船化学试剂科技有限公司),用蒸馏水定容于 100 mL 容量瓶中,即得 5% 硝酸铝溶液。准确称取 0.166 8 g 硫酸亚铁(天津市风船化学试剂科技有限公司),用少量蒸馏水溶解,定容于 100 mL 容量瓶中,得 6 mmol/L 硫酸亚铁溶液。准确移取 0.6 mL 30% 过氧化氢(天津市风船化学试剂科技有限公司),定容于 1 L 容量瓶中,得 6 mmol/L H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 溶液。准确称量 0.082 9 g 水杨酸(天津市申泰化学试剂公司),用少量无水乙醇溶解,定容于 100 mL 容量瓶中,得 6 mmol/L 水杨酸溶液。准确称取 19.716 mg DPPH·,用无水乙醇溶解定容至 250 mL 容量瓶中,得  $2 \times 10^{-7}$  mol/L DPPH· 溶液。其他试剂均为分析纯,试验用水为二次蒸馏水。

### 1.2 主要仪器

UV-2550 型紫外-可见分光光度计[日本岛津公司(苏州)],FA22048 电子天平(上海精密科学仪器有限公司),KQ-400KDE 型台式高功率数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司),723 型分光光度计(上海光谱仪器有限公司)。

### 1.3 方法

**1.3.1 藜麦黄酮的提取方法** 将新鲜的藜麦置于 65 ℃ 烘箱内烘干至恒质量,粉碎后过 60 目筛,备用。称取藜麦粉末 2 g 置于 100 mL 锥形瓶中,加入 80 mL 80% 乙醇溶液,240 W 50 ℃ 下超声提取 30 min,用 80% 乙醇溶液定容至 100 mL 容量瓶中,抽滤,作为待测液<sup>[3]</sup>。

**1.3.2 藜麦黄酮的测定方法** 精密称取干燥至恒质量的芸香苷标准品 0.020 2 g 置于烧杯中,用少量的无水乙醇溶解,并用 80% 乙醇溶液定容于 100 mL 容量瓶中,摇匀。准确吸取标准样品 0、0.2、0.4、0.6、0.8、1 mL,分别置于 10 mL 比色管中,加入 5% Al(NO<sub>3</sub>)<sub>3</sub> 1 mL,用 80% 乙醇溶液定容,摇匀,静置 5 min。在 405 nm 处测定吸光度。当芸香苷浓度范围为 4.04~20.2 μg/mL 时,与吸光度有良好的线性关系<sup>[4]</sup>,得回归方程:  $D = 0.034 3C + 0.010 2$ ,  $r^2 = 0.999$ 。准确量取稀释后的提取液 0.5 mL,按标准曲线的方法测定其吸光度。黄酮得率(W)计算公式如下:

$$W = V / (f \times m \times 1\,000) \times 100\% \quad (1)$$

式中:V 为提取液总体积,f 为稀释倍数,m 为藜麦总质量。

### 1.3.3 藜麦黄酮抗氧化性研究

**1.3.3.1 对 DPPH· 清除率的测定** 以最优条件提取藜麦黄酮,稀释、定容,得 0.202 mg/mL 藜麦黄酮提取液。用无水乙醇分别配制不同浓度藜麦黄酮溶液。在 10 mL 比色管中分别加入待测溶液 1 mL 与 DPPH· 溶液 2 mL,混匀,避光静置 30 min,在 517 nm 处测定吸光度 D。每一吸光度平行测定 3 次,取平均值。清除率计算公式如下:

$$\text{DPPH} \cdot \text{清除率} = (D_{\text{空白}} - D_{\text{样品}} + D_{\text{对照}}) / D_{\text{空白}} \times 100\% \quad (2)$$

式中: $D_{\text{空白}}$  表示 2 mL 无水乙醇代替待测液得到的吸光度; $D_{\text{对照}}$  表示 2 mL 无水乙醇代替待测液得到的吸光度。

**1.3.3.2 对羟自由基(·OH)清除率的测定** 利用 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 对 Fe<sup>2+</sup> 混合产生·OH,在体系内加入水杨酸捕捉·OH 并产生有色物质,该物质在 510 nm 下有最大吸光度。准确吸取 1 mL 不同质量浓度的藜麦黄酮提取液置于 10 mL 比色管中,

收稿日期:2014-05-20

基金项目:忻州师范学院应用化学创新实践基地(编号:院政字 201331);忻州师范学院大学生科技创新项目(编号:2012.1022)。

作者简介:董 晶(1992—),从事分析化学研究。

通信作者:李志英,教授,从事分析化学教学与科研工作。E-mail: lizhiying8001@163.com。

依次加入 2 mL 6 mmol/L FeSO<sub>4</sub>、2 mL 6 mmol/L 水杨酸 - 乙醇、2 mL 6 mmol/L H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>，37 ℃ 反应 30 min，以蒸馏水为参比，在 510 nm 下测量各浓度的吸光度<sup>[5]</sup>。不同浓度藜麦黄酮溶液 1 mL 为黄酮的本底吸收。清除率计算公式如下：

·OH 清除率 =  $\frac{D_0 - (D_i - D_j)}{D_0} \times 100\%$ 。(3)

式中：*D*<sub>0</sub> 表示不加提取液时空白溶液的吸光度；*D<sub>i</sub>* 表示加入提取液时溶液的吸光度；*D<sub>j</sub>* 表示不加 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 提取液本底的吸光度。

1.3.4 降糖作用的测定 α - 淀粉酶水解淀粉为还原糖，3,5 - 二硝基水杨酸 DNS 与还原糖反应显示红棕色，540 nm 处比色，定量测定 α - 淀粉酶的活性。取 0.3 mL α - 淀粉酶 37 ℃ 预热 5 min，加入 0.4 mL 1% 淀粉溶液在 37 ℃ 下反应 5 min，加入 0.2 mL DNS，沸水浴 5 min 后，取出冷却，定容至 25 mL，540 nm 下测定吸光度<sup>[5]</sup>。在反应体系中加入不同浓度提取液 1 mL，空白对照为不加提取液（以蒸馏水补足）。背景对照为对应浓度的提取液，反应终止后用蒸馏水稀释定容至 25 mL，于 540 nm 处测其吸光度。抑制剂对 α - 淀粉酶的抑制率计算公式如下：

抑制率 =  $(1 - \frac{D_3 - D_4}{D_1 - D_2}) \times 100\%$ 。(4)

式中：*D*<sub>1</sub>、*D*<sub>2</sub>、*D*<sub>3</sub>、*D*<sub>4</sub> 分别为 540 nm 处空白、空白对照、提取液、背景对照的吸光度。

2 结果与分析

2.1 乙醇浓度的影响

称取 2 g 样品，分别加入 50%、60%、70%、80%、90% 乙醇溶液 80 mL，超声功率 240 W 30 ℃ 超声辅助提取 30 min，定容至 100 mL 容量瓶中，抽滤。准确吸取 2 mL 提取液，测其吸光度，得黄酮得率与乙醇浓度的关系。由表 1 可知，黄酮得率随乙醇浓度的增加而增加，当乙醇浓度达 80% 时，黄酮得率最大，当乙醇浓度再增大时，黄酮得率开始下降，因此乙醇最佳浓度为 80%。

表 1 乙醇浓度的选择	
乙醇浓度(%)	黄酮得率(%)
50	0.20
60	0.23
70	0.24
80	0.34
90	0.26

2.2 料液比的影响

称取 2 g 样品，分别加入 20、30、40、50、60 mL 80% 乙醇，240 W 30 ℃ 超声辅助提取 30 min，定容至 100 mL 容量瓶中，抽滤。准确吸取 2 mL 提取液，测其吸光度，得黄酮得率与料液比的关系。由表 2 可知，黄酮得率随着料液比的增大而增加，当料液比为 1 g：50 mL 时黄酮得率最大，当料液比再增大时，黄酮得率开始下降，因此最佳料液比为 1 g：50 mL。

2.3 提取时间的影响

称取 2 g 样品，加入 80 mL 80% 乙醇溶液，240 W 30 ℃ 超声辅助提取 10、20、30、40、50 min，定容至 100 mL 容量瓶中，抽滤。准确吸取 2 mL 提取液，测其吸光度，得到黄酮得率与

表 2 料液比的选择	
料液比(g：mL)	黄酮得率(%)
1：20	0.21
1：30	0.29
1：40	0.33
1：50	0.42
1：60	0.30

提取时间的关系。由表 3 可知，黄酮提取率随提取时间的增大而增加，当提取时间为 30 min 时，黄酮提取率最高，继续延长提取时间，黄酮提取率下降，因此最佳提取时间为 30 min。

表 3 提取时间的选择	
提取时间(min)	黄酮得率(%)
10	0.25
20	0.31
30	0.33
40	0.31
50	0.28

2.4 提取温度的影响

称取 2 g 样品，分别加入 80 mL 80% 乙醇溶液，分别在 30、40、50、60、70 ℃ 超声辅助提取 30 min，超声功率 240 W，定容至 100 mL 容量瓶中，抽滤。准确吸取 2 mL 提取液，测其吸光度，得黄酮得率与提取温度的关系。由表 4 可知，黄酮得率随提取温度的增大而增加，当提取温度为 50 ℃ 时黄酮得率最大，再增加提取温度，黄酮得率开始下降，因此最佳提取温度为 50 ℃。

表 4 提取温度的选择	
提取温度(℃)	黄酮得率(%)
30	0.21
40	0.27
50	0.32
60	0.29
70	0.28

2.5 超声功率的影响

称取 2 g 样品，分别加入 80 mL 80% 乙醇溶液，30 ℃ 分别在 160、200、240、280、320 W 功率下超声辅助提取 30 min，定容至 100 mL 容量瓶中，抽滤。准确吸取 2 mL 提取液，测其吸光度，得黄酮得率与超声功率的关系。由表 5 可知，黄酮得率开始随超声功率的增大而增加，当功率为 240 W 时黄酮得率最大，再增大超声功率，黄酮得率下降，因此最佳超声功率为 240 W。

表 5 超声功率的选择	
超声功率(W)	黄酮得率(%)
160	0.26
200	0.28
240	0.34
280	0.31
320	0.29

2.6 机理探讨

准确吸取芸香苷标准品溶液、藜麦黄酮提取液各 2 mL，分别置于 10 mL 比色管中，各加入 1 mL Al(NO<sub>3</sub>)<sub>3</sub> 溶液，振荡，用 80% 乙醇溶液定容，摇匀，静置 5 min。用紫外可见分光光度计确定最大吸收波长。在 300 ~ 600 nm 波长范围内扫

描,得标准品、提取液的吸收光谱。由图 1 可知,标准品配合物、提取液配合物的最大吸收波长均为 405 nm,故本试验用该波长作为测定波长。

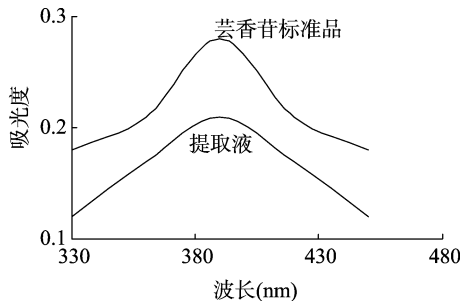


图1 标准品、提取液的最大吸收波长

2.7 藜麦黄酮抗氧化性

2.7.1 藜麦黄酮对 DPPH· 的清除作用 DPPH 自由基有单电子,在 517 nm 处有一强吸收,其醇溶液呈紫色。当藜麦黄酮存在时,由于与其单电子配对而使其吸收逐渐消失,其褪色程度与其接受电子数量成定量关系。由表 6 可知,藜麦黄酮对 DPPH· 清除效果明显,在 5~25 μg/mL 范围内,清除率随着质量浓度的增加而增大,在 25 μg/mL 时有最大清除率 (89.3%),说明藜麦黄酮对 DPPH· 有很好的清除作用。

表 6 藜麦黄酮对 DPPH· 的清除作用

藜麦黄酮质量浓度 (μg/mL)	清除率 (%)
5	22.8
10	39.7
15	56.8
20	79.3
25	89.3
30	89.3

2.7.2 藜麦黄酮对羟自由基(·OH)的清除作用 羟基自由基是一种化学性质极强的活性分子,也是危害最大的自由基之一。由表 7 可知,藜麦黄酮对羟自由基(·OH)清除效果明显,在 5~25 μg/mL 范围内,清除率随着质量浓度的增加而增大,当质量浓度达 20 μg/mL 时,清除率最大,说明藜麦黄酮对羟自由基(·OH)有很好的清除作用。

2.7.3 藜麦黄酮提取液对 α-淀粉酶的抑制作用 分别取 2、3、4 mL 提取液,计算抑制率。由表 8 可知,藜麦黄酮提取

表 7 藜麦黄酮对羟自由基(·OH)的清除作用

藜麦黄酮质量浓度 (μg/mL)	清除率 (%)
5	19.7
10	25.6
15	55.9
20	86.6
25	86.6
30	86.5

表 8 藜麦黄酮提取液对 α-淀粉酶的抑制作用

黄酮体积(mL)	抑制率(%)
2	37.26
2	37.93
3	32.14
3	29.41
3	33.33
4	41.38

液对 α-淀粉酶有抑制作用,且其浓度与抑制率正相关。

3 结论

本试验研究了超声辅助法提取藜麦中黄酮的提取工艺,结果表明,超声波法的最佳提取条件为:料液比 1 g:50 mL,乙醇浓度 80%,提取温度 50℃,提取时间 30 min,超声功率 240 W。藜麦黄酮对 DPPH·、羟自由基(·OH)具有较强的清除作用。本试验证实了黄酮具有清除自由基、抗氧化的功效,是一种有效的自由基清除剂。

参考文献:

[1]万丽英. 苦荞麦的营养与开发应用前景[J]. 农业科技通讯, 2010(9):90-92.

[2]汤容,樊瑞霞. 大豆异黄酮抗癌作用的研究进展[J]. 中国药 学杂志,1999,34(7):3-6.

[3]王文平,梁海玲,姚元华. 木瓜提取物中总黄酮含量的测定[J]. 贵州医药,2005,29(6):546-548.

[4]薛梅,黄国强,陈宏伟. 木瓜中总黄酮的提取及含量测定[J]. 淮海医药,2004,22(2):156.

[5]吴春,陈林林. 菟丝子黄酮体外清除自由基活性的研究[J]. 天然产物研究与开发,2005,17(5):24-27.

[9]李放. 无公害对虾与青蟹混养技术[J]. 技术与市场,2009,16 (12):153.

[10]高雪娟,卜利源. 南美白对虾与河蟹的池塘混养试验[J]. 水利 渔业,2004,24(5):51,83.

[11]姜存楷. 对虾塘虾混养技术[J]. 科学养鱼,1999(7):15.

[12]朱振乐. 杂色蛤与对虾混养技术[J]. 水产科学,2001,20(4): 28-28.

[13]赵春光. 虾蟹混养新技术[J]. 饲料研究,2002(9):35,34.

[14]叶文柏. 虾蟹混养新技术[J]. 北京水产,2004(3):25.

[15]胡永华,钱伦. 池塘虾蟹混养技术要点[J]. 渔业致富指南, 2012(21):50-51.

[16]李敦岳,张清毅. 池塘虾蟹混养试验[J]. 科学养鱼,2012(3): 32-33.

(上接第 240 页)

[3]郑春波,王世党,于诗群,等. 中国对虾与红鳍东方鲀混养技术初 探[J]. 齐鲁渔业,2005,22(5):11-12.

[4]郭泽雄. 高位池南美白对虾与鲮鱼混养技术初探[J]. 科学养 鱼,2004(3):32-33.

[5]刘宝金,刘德永,刘宝明,等. 三疣梭子蟹与对虾混养技术[J]. 中国水产,2001(5):58-59.

[6]穆占昆,杨振国,周玉,等. 中国对虾和三疣梭子蟹混养试验 [J]. 水产科学,2001,20(5):16-18.

[7]陈延坎. 虾池混养锯缘青蟹技术[J]. 中国水产,2003,6(1): 60-61.

[8]梁华芳,邱国,陈康惜. 利用老化虾塘进行斑节对虾与锯缘青 蟹混养试验[J]. 海洋科学,2003,27(7):10-12,42.